Sérums d'agglutination de Vibrio cholerae

FR

1. DOMAINE D'APPLICATION

Les sérums d'agglutination de *Vibrio cholerae* sont destinés à l'identification sérologique de *V. cholerae* à des fins épidémiologiques et diagnostiques. Le sérum polyvalent 01 (ZM05/R30165001) est destiné à être utilisé dans des tests de dépistage par agglutination sur lame : les sérums des sous-types (ZM06/R30165101, ZM07/R30165201) peuvent être utilisés dans des tests d'agglutination sur lame et en tube comme décrit ci-après.

Les tests sérologiques ont un objectif de dépistage et ils devront être effectués en complément et non pas en remplacement des procédures de culture et de biochimie.

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Les suspensions additionnées de formol sont recommandées pour le test en tube mais certains opérateurs préfèrent utiliser des suspensions de sérum physiologique. Les suspensions devraient être mises en ébullition pendant deux heures et demie avant d'effectuer le test par agglutination sur lame pour éliminer un certain nombre de réactions faussement positives et faussement négatives.[1] Les sous-types Inaba et Ogawa de *V. cholerae* sont étroitement apparentés et par conséquent des réactions croisées peuvent se produire.[2] Les sérums des sous-types ont été absorbés de telle sorte qu'aucune réaction croisée ne devrait apparaître dans les tests d'agglutination sur lame. Des réactions croisées peuvent être observées avec les tests d'agglutination en tube, mais le titre est au moins quatre fois inférieur au titre spécifique inscrit sur le flacon. Il faut rappeler que les vibrions El Tor ne peuvent être différenciés, sérologiquement, de *V. cholerae*.

3. PRINCIPE DE LA METHODE

Les tests sérologiques sont basés sur le fait que les anticorps contenus dans le sérum, produits en réponse à l'exposition à des antigènes bactériens, agglutinent visiblement les bactéries portant des antigènes homologues.

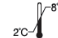
4. REACTIFS

COMPOSITION DU COFFRET

Sérums d'agglutination de *Vibrio cholerae*	2 ml
ZM05/R30165001	1 flacon compte-gouttes (bouchon bleu)
ZM06/R30165101	1 flacon compte-gouttes (bouchon bleu)
ZM07/R30165201	1 flacon compte-gouttes (bouchon bleu)

5. DESCRIPTION, PREPARATION POUR UTILISATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDEES

Voir également le paragraphe **Précautions et restrictions d'emploi**



Les sérums doivent être conservés entre 2 et 8°C pour maintenir leur activité au moins jusqu'à la date inscrite sur le flacon.

Sérums d'agglutination de *Vibrio cholerae*

AGGLUTINATING SERUM

Ils sont produits par des lapins et sont conservés dans du phénol à 0,5%. Chaque flacon, doté d'une tétine et d'un compte-gouttes, doit contenir suffisamment de sérum pour réaliser 40 à 50 tests et chaque sérum est prêt à l'emploi.

Lors de leur conservation, il arrive que certains sérums se troublent légèrement.Ceci n'indique pas nécessairement leur détérioration et ne provoque normalement pas d'interférences avec les résultats ; les sérums peuvent cependant être clarifiéspar centrifugation ou par filtration à travers une membrane (0,45 µm) avant emploi. Des sérums fortement troubles indiquent leur contamination et doivent être jetés.

6. PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

IVD

Destiné exclusivement au diagnostic *in vitro*.

Réservé exclusivement à usage professionnel.

Pour des informations sur les composants potentiellement dangereux, se référer aux fiches de sécurité fournies par le fabricant et aux étiquettes du produit.

6.1. INFORMATIONS DE SECURITE

6.1.1 REMARQUE : Les *V. cholerae* sont classifiés comme organismes de catégorie 2+ ; les manipuler conformément aux directives appropriées en vigueur.

6.1.2 L'équipement non jetable doit être stérilisé en utilisant une procédure appropriée après l'emploi, bien que la méthode la plus appropriée soit la stérilisation par autoclave pendant au moins 15 minutes à 121°C. Le matériel à usage unique doit être stérilisé par autoclave ou incinéré.

6.1.3 Les éclaboussures de matériaux potentiellement infectieuxdoivent être éliminées immédiatement à l'aide d'un papier absorbant et les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant anti-bactérien standard ou de l'alcool à 70%. Le matériel utilisé pour le nettoyage des éclaboussures, y compris les gants, doit être éliminé comme s'il s'agissait de déchets biologiquement dangereux.

6.1.4 Ne pas effectuer de pipetages à la bouche. Pour manipuler les échantillons et effectuer le dosage, porter des gants à usage unique et une protection des yeux. Une fois le test terminé, se laver soigneusement les mains.

6.1.5 Ces réactifs contiennent du phénol. Bien que sa concentration soit faible, le phénol est connu comme étant toxique par ingestion et par contact avec la peau. Ne pas avaler les réactifs. Si l'un d'entre eux entre en contact avec la peau ou les yeux, laver la zone en rinçant immédiatement et abondamment à l'eau.

6.1.6 Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les échantillons et réactifs comme s'ils étaient potentiellement infectieux et de les manipuler avec toutes les précautions nécessaires.

6.2. PRECAUTIONS D'ANALYSE

6.2.1 Ne pas utiliser les antisérums au-delà de la date de péremption indiquée. Eviter la contamination microbiologique des antisérums, ceci pouvant provoquer des résultats erronés et réduire la durée de vie du produit.

6.2.2 Ne pas modifier la procédure du test ni le temps d'incubation ou les températures.

6.2.3 Après emploi, replacer les sérums à la température de conservation recommandée.

7. PRELEVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Il est recommandé d'utiliser des cultures récentes sur milieux non sélectifs, par exemple sur gélose nutritive. Ne pas utiliser de TCBS ou autres milieux sélectifs. Pour de plus amples informations sur le prélèvement et la préparation des échantillons, consulter un manuel standard.

8. PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Voir le paragraphe **Composition du coffret**.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Sérum physiologique (0,85%).
2. Lames de verre.
3. Anse bactériologique et bec bunsen.
4. Source de lumière sur fond sombre.
5. Tubes à essai et portoir.
6. Bain-marie à température réglable avec thermomètre.
7. Chronomètre.
8. Sérum physiologique additionné de formol (0,5%) ou de phénol (0,5%).

PROCEDURE DU TEST

Test d'agglutination sur lame

Etape 1 Distribuer deux gouttes différentes (40 µl chacune) de sérum physiologique sur une lame de verre. Emulsionner les parties de la culture à tester avec une anse, dans chaque goutte de sérum physiologique, pour obtenir une suspension uniforme, assez dense.

Etape 2 Ajouter, dans l'une des suspensions utilisée comme témoin, une goutte (40 µl) de sérum physiologique et homogénéiser. Ajouter, dans l'autre suspension, une goutte (40 µl) d'antisérum non dilué et homogénéiser.

Etape 3 Faire osciller la lame pendant une minute et observer s'il se produit une agglutination, plus facilement visible sur un fond sombre éclairé par une lumière indirecte. Traiter la lame utilisée selon les règles de désinfection et d'élimination appropriées.

Test d'agglutination en tube (ZM06/R30165101, ZM07/R30165201 seulement)

Etape 1 L'antigène peut être préparé en émulsionnant des fragments provenant d'une culture pure dans du sérum physiologique pur, isotonique ou contenant du formol (0,5%) ou du phénol (0,5%) pour donner une suspension de faible concentration (environ 10^9 bactéries/ml).

Etape 2 Préparer des dilutions en série d'antisérum dans des volumes de 0,5 ml de sérum physiologique allant de 1/10e à 1/320e. Les tubes en verre avec un fond rond d'environ 9 mm x 85 mm conviennent.

Etape 3 Introduire 0,5 ml de la suspension d'antigène dans chaque tube. Ceci a pour effet de doubler la dilution d'antisérum.

Etape 4 Prévoir un tube témoin, contenant uniquement de la suspension et du diluant.

Etape 5 Agiter les tubes et laisser incuber pendant la nuit (16 à 20 heures) à 50°C.

Etape 6 Observer l'apparition éventuelle d'une agglutination.

9. RESULTATS

Agglutination sur lame

L'agglutination doit être forte et clairement visible au bout d'une minute. Il ne doit se produire aucune agglutination visible dans la suspension témoin ; si ce n'est pas le cas, la suspension ne convient pas à cette méthode d'analyse.

Agglutination en tube

Dans une réaction positive, une agglutination granulaire manifeste doit apparaître.

Dans le cas d'une réaction négative ainsi que pour le sérum physiologique témoin, l'aspect de la suspension doit rester inchangé. Remarquer qu'après l'incubation nocturne (16 à 20 heures) la suspension peut se déposer, mais tous les sédiments devraient être remis en suspension en donnant une chiquenaude au tube. Une agglutination dans le tube témoin indique une suspension de type R (rugueux), qui n'est pas appropriée pour le test.

CONTROLE QUALITE

Il est recommandé de tester le produit, tout au long de son utilisation, avec des cultures positives et négatives connues.

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

Le titre de sérum est la dernière dilution montrant une agglutination positive. Un titre égalant ou approchant le titre inscrit sur le flacon doit indiquer une homologie.

Dans la majorité des cas, les titres de 1/20e ou inférieurs ne sont pas considérés comme significatifs. Cependant, l'absorption importante requise pour rendre le sérum Inaba *Vibrio cholerae*,

provoque souvent une faible activité homologue et dans ce cas, un titre d'1/20e peut être significatif.

11. LIMITES DE LA METHODE

Les tests sérologiques utilisés seuls ne fournissent rien de plus qu'une identification présomptive et un test de confirmation biochimique doit être réalisé.

Si des résultats non concluants sont obtenus avec l'agglutination sur lame, les cultures peuvent être passées à la vapeur pour réduire les réactions non spécifiques.

12. RESULTATS ATTENDUS

Agglutination visible en présence de cultures homologues.

13. CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES

Le sérum polyvalent 01 (ZM05/R30165001) devrait montrer une agglutination visible dans le test sur lame avec les sous-types *V. cholerae*. Les sérums Ogawa et Inaba devraient montrer une agglutination visible dans les tests d'agglutination sur lame ou en tube respectivement avec les sous-types Ogawa et Inaba *V. cholerae*. Les vibrions El Tor devraient être différenciés de *V. cholerae* par biochimie.

14. BIBLIOGRAPHIE

1 **Isaacson, M.** (1975). Practical aspects of a cholera surveillance programme. *S.A. Med. J.,* **49,** 1699.

2 **Wilson, G.S. and Miles, A.A.** (1975). *Vibrio cholerae* antigenic structure. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, 6th ed., London, E. Arnold. Page 664.

CONDITIONNEMENT

REF ZM05/R30165001....................................2 ml
ZM06/R30165101....................................2 ml
ZM07/R30165201....................................2 ml

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température (température de conservation)
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	A utiliser avant (date de péremption)
TITRE	Dernière dilution montrant une agglutination positive
	fabricant



IFU X7808A Juin 2013 révisé

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.